



Universiteit
Leiden
The Netherlands

Basic disease mechanisms in rheumatoid arthritis

Scherer, H.U.

Citation

Scherer, H. U. (2013, April 25). *Basic disease mechanisms in rheumatoid arthritis*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/20842>

Version: Corrected Publisher's Version

License: [Licence agreement concerning inclusion of doctoral thesis in the Institutional Repository of the University of Leiden](#)

Downloaded from: <https://hdl.handle.net/1887/20842>

Note: To cite this publication please use the final published version (if applicable).

Cover Page



Universiteit Leiden

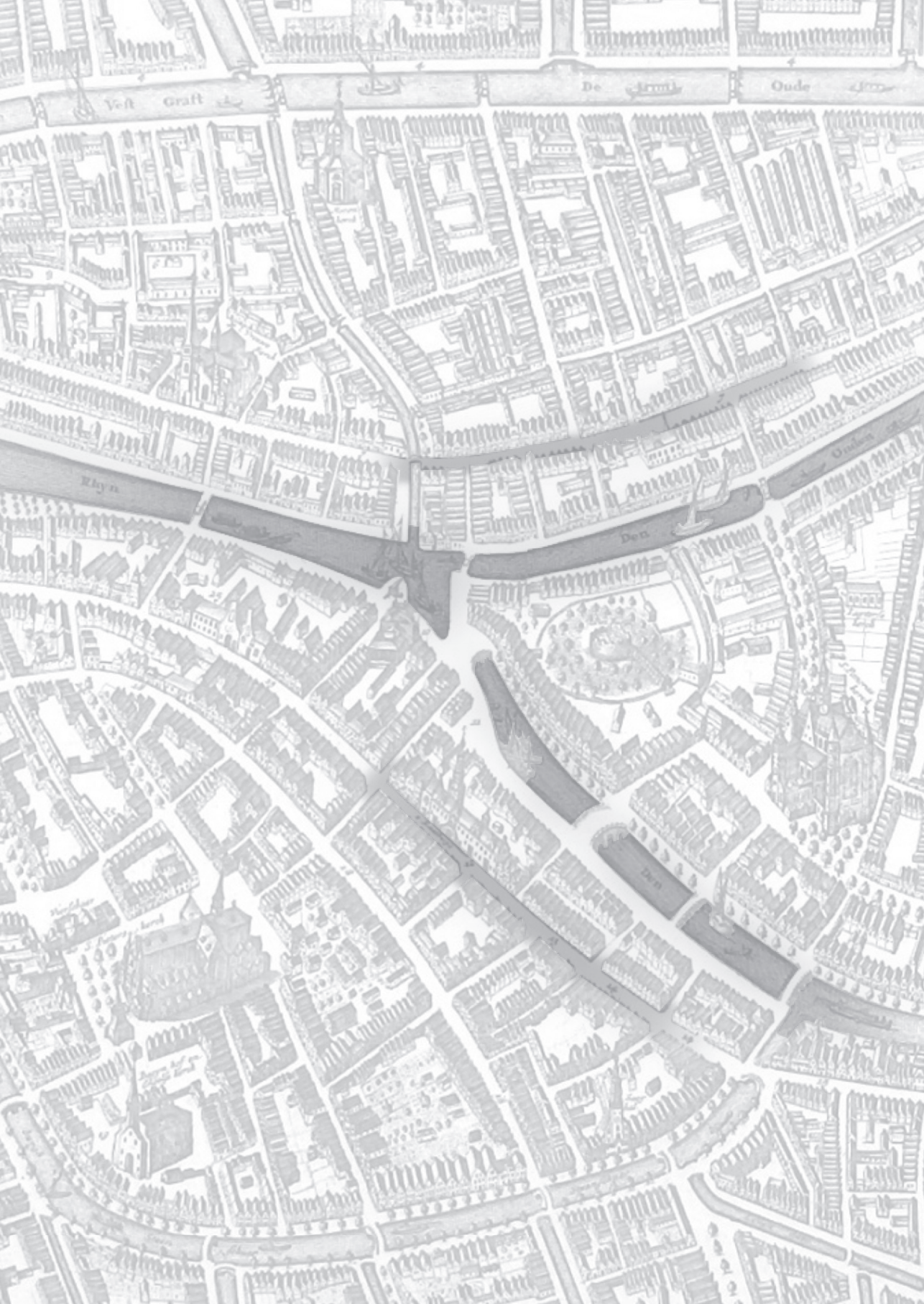


The handle <http://hdl.handle.net/1887/20842> holds various files of this Leiden University dissertation.

Author: Scherer, Hans Ulrich

Title: Basic disease mechanisms in rheumatoid arthritis

Issue Date: 2013-04-25





Chapter 9

Nederlandse Samenvatting

NEDERLANDSE SAMENVATTING

Het ziektebeeld reumatoïde artritis (RA) ontstaat door een complex samenspel van verschillende factoren. Genetische aanleg vormt een belangrijke basis. Vervolgens zijn er effecten van omgevingsfactoren waarna autoantistoffen, afweercellen, hormonen en lokale factoren uit bot en kraakbeen leiden tot een karakteristieke vorm van gewrichtsontsteking. Hoewel het klinisch beeld van RA bij patiënten met lang bestaande ziekte typisch en onmiskenbaar is, is de presentatie van de patiënt in een vroeg stadium heel variabel. In deze fase is het beloop van het ziektebeeld vaak moeilijk in te schatten, omdat zowel rustige, zich sluipend verslechterende vormen als vormen met een agressief, snel tot gewrichtsschade leidend beloop voorkomen. Recent onderzoek heeft laten zien dat, op basis van de aanwezigheid van autoantistoffen tegen gecitrullineerde eiwitten (anticitrullinated proteïne antistoffen, ACPA), het ziektebeeld valt in te delen in ten minste twee vormen: ACPA-negatieve en ACPA-positieve RA. ACPA zijn vaak al jaren voor de eerste klachten in het serum van patiënten aanwezig, ze voorspellen het ontstaan van RA en zijn markers voor een ernstiger beloop met veel gewrichtsschade. Ook ontwikkelen ACPA zich bij voorkeur bij patiënten met een specifieke genetische achtergrond. Vooral de aanwezigheid van bepaalde bloedgroepen op witte bloedcellen, de HLA allelen die als “shared epitope” allelen bekend staan, spelen een belangrijke rol bij RA. Aanvankelijk dacht men dat deze bloedgroep een risicofactor was voor het ontstaan van RA, maar het is duidelijk dat deze erfelijke factor alleen een risico vormt voor het ontstaan van ACPA-positieve ziekte. Gezien deze associaties is er grote belangstelling voor een beter begrip van de door ACPA veroorzaakte biologische effecten. Ook is het van belang kennis te hebben van de bijdrage die andere genetische risicofactoren of bepaalde afweercellen zoals T-cellen leveren aan het ontstaan van het ontstekingsproces. Het in dit proefschrift gepresenteerde promotieonderzoek omvat deze aspecten en is daarom onderverdeeld in drie delen. Deel I beschrijft het onderzoek naar een mechanisme waardoor de activiteit van ontsteking door zogenaamde regulatoire T-cellen kan worden geremd. Deel II beschrijft het onderzoek naar de eigenschappen van ACPA die deze ziekteactiviteit zouden kunnen beïnvloeden. Ten slotte beschrijft deel III het effect dat een recent gevonden genetisch variant kan hebben op radiologische gewrichtsschade ten gevolge van RA.

DEEL I: CONTROLE VAN ONTSTEKING DOOR REGULATOIRE T-CELLEN

Regulatoire T (Treg)-cellen hebben als voornaamste eigenschap dat zij de functie van effector T-cellen kunnen remmen. Hierdoor kunnen Treg-cellen het ontstaan van auto-immuniteit voorkomen. Dit wordt duidelijk in situaties waarbij door een genetisch defect geen Treg-cellen aanwezig zijn. In de muis, maar ook in de mens leidt een gebrek aan

Treg-cellen tot ernstige auto-immuun ziekte waarbij van bijna alle organen, inclusief de gewrichten, zijn betrokken. Gebaseerd op deze observatie is de gedachte geuit dat Treg-cellen bij patiënten met RA ontbreken of onvoldoende werkzaam zijn, dan wel dat effector T-cellen ongevoelig zijn geworden voor de remmende effecten van Treg-cellen.

In een proefdiermodel voor artritis spelen effector T-cellen een belangrijke rol bij het ontwikkelen van de ziekte doordat ze hulp verlenen aan B-cellen. Hierdoor kunnen deze B-cellen de juiste autoantistoffen aanmaken. Deze autoantistoffen zijn pathogeen en kunnen de ziekte overdragen aan een gezonde muis. De therapeutische toediening van Treg-cellen in dit model remt het beloop van artritis. Hierbij valt echter op dat de Treg-cellen geen invloed hebben op de hoeveelheid autoantilichamen. Deze bevinding gaf aanleiding tot de hypothese dat Treg-cellen ontsteking ook op een andere, effector T-cel onafhankelijke, wijze kunnen remmen. In **hoofdstuk 2** wordt een nieuw, hierbij passend, mechanisme beschreven. Geactiveerde Treg-cellen kunnen een oplosbare factor produceren die de effecten van TNF- α , een ontsteking veroorzakend eiwit, remt. TNF- α is een van de meest belangrijke mediators van ontsteking bij patiënten met RA, en therapeutische remming van TNF- α hoort bij de standaard behandelingen van deze ziekte. Treg-cellen dragen een receptor voor TNF- α , TNFR2, op hun oppervlak. Deze receptor wordt bij activering afgesplitst van de celwand. Dit geldt niet alleen voor Treg-cellen van de muis, maar werd ook voor humane Treg-cellen gevonden. Door de secretie van TNFR2 wordt TNF- α weggevangen waardoor de ontsteking wordt geremd. Hoewel deze bevinding een verklaring kan zijn voor de positieve effecten van Treg-cellen op het beloop van artritis in de muis blijft het onduidelijk waarom dit mechanisme niet voldoende is om activiteit van RA in de mens te remmen. Uit verder onderzoek zal moeten blijken waarom Treg-cellen in patiënten met RA de ziekte niet kunnen voorkomen of onder controle kunnen brengen.

DEEL II: EIGENSCHAPPEN VAN DE AFWEERREACTIE TEGEN GECITRULLINEERDE EIWITTEN

Zoals beschreven hebben ACPA een grote diagnostische maar ook voorspellende waarde in het kader van RA. Recente data laten zien dat ACPA directe ziektebevorderende eigenschappen hebben waardoor ontsteking mede veroorzaakt of versterkt kan worden. ACPA kunnen echter ook in hoge concentratie aanwezig zijn zonder dat er sprake is van actieve gewrichtsontsteking. ACPA zijn in het bloed van gezonde mensen gevonden jaren voordat deze mensen klachten ontwikkelden. Deze bevindingen suggereren dat naast de aanwezigheid van ACPA nog een cofactor nodig is om ontsteking te veroorzaken, of dat ACPA variabele eigenschappen bezitten die betrokken zijn bij (het ontstaan van) de gewrichtsontsteking. Hierbij kan ondermeer gedacht worden aan een structurele eigenschap aanwezig op deze antistoffen.

Antilichamen zijn eiwitten die suikerstructuren dragen. Het Fc gedeelte van IgG moleculen bevat twee suikers die in vorm en samenstelling variëren. Afhankelijk van deze samenstelling varieert de halfwaardetijd van het antilichaam en kan IgG in verschillende mate met cellen van het afweersysteem in contact treden, deze activeren of remmen en het complement systeem activeren. Er is al langer bekend dat IgG moleculen in serum van RA-patiënten minder galactose dragen dan IgG moleculen van gezonde donoren. Gebaseerd op deze bevinding gaan de hoofdstukken 3 en 4 in op de vraag in hoeverre de suikerstructuren op het Fc gedeelte van ACPA ontsteking kunnen bevorderen. **Hoofdstuk 3** beschrijft de ontwikkeling van een techniek waardoor het mogelijk werd ACPA uit een kleine hoeveelheid serum op te zuiveren en aansluitend het suikerprofiel te meten. **Hoofdstuk 4** maakt gebruik van deze methode voor het bepalen van ACPA Fc suikerprofielen van een groter aantal patiënten met ACPA positieve artritis. Interessant genoeg werd gevonden dat ACPA inderdaad een ontsteking bevorderend suikerprofiel dragen omdat ACPA veelal de suikers siaalzuur en galactose missen. Het ontbreken van deze suikers maakt de communicatie met afweercellen via activerende Fc receptoren makkelijker. Opvallend was de bevinding dat ACPA in synoviaal vocht het meest inflammatoire profiel hadden. Deze eigenschap is specifiek voor ACPA omdat dit niet werd gevonden voor het “niet-specifieke” IgG in het synoviale vocht. Deze observatie suggereert dat ACPA producerende B-cellen antilichamen maken met een specifieke suikerstructuur die mogelijk extra kunnen bijdragen aan het ziekteproces. Inderdaad werd een sterke correlatie gevonden tussen activiteit van de ziekte en gebrek aan galactose. Nader onderzoek moet nu laten zien of de verandering van de suikerstructuur aan ACPA voorafgaat aan de stijging van ziekteactiviteit. Dit zou kunnen worden verwacht indien er een causale relatie aanwezig zou zijn.

Deze data geven ook aanleiding tot de vraag of ACPA producerende B-cellen mogelijk een aparte ontwikkeling ondergaan. ACPA bestaan in alle isotypes. Dit geeft aan dat ACPA zeer waarschijnlijk de klassieke stappen van ontwikkeling in het germinaal center doorlopen. Hier gaan B-cellen o.a. over van de productie van het IgM isotype naar de productie van het IgG, A of E isotype. Ook ondergaat de B-cel in een germinaal center verdere uitrijping waardoor de geproduceerde antistoffen antigenen beter, met een hogere affiniteit, kunnen herkennen. Deze rijping vindt plaats indien na competitie tussen B-cellen voor het antigeen dat ze herkennen. De B-cel met de hoogste affiniteit zal in dit proces overleven. Daar autoantigenen zoals gecitrullineerde eiwitten overal aanwezig zijn, is het de vraag of er competitie tussen B-cellen optreedt nodig voor affiniteitrijping van antistoffen. Inderdaad vonden wij, zoals beschreven in **hoofdstuk 5**, dat dit niet het geval blijkt te zijn. ACPA bleken, op groepsniveau, vooral een lage aviditeit te hebben. De aviditeit veranderde niet in de loop van de tijd en verschilde significant van de aviditeit die werd gevonden voor anti-tetanus of anti-diphteria toxine antilichamen. Alles overwegende impliceert dit dat ACPA producerende cellen een proces van ontwikke-

ling doorlopen dat verschilt van dat van conventionele B-cellen. Dit zou in de toekomst aanknopingspunten kunnen geven voor een gerichte interventie in dit proces.

Tevens staat in deel II beschreven in hoeverre het herkenningsprofiel van ACPA, gebruikmakend van verschillende gecitrullineerde antigenen, correleert met verschillende stadia van het ziekteproces. De ACPA-reactie is polyclonaal. Dit betekent dat ACPA verschillende gecitrullineerde antigenen herkennen. Dit maakt de aanname mogelijk dat bepaalde antigenen “belangrijker” zijn voor de ziekte dan andere, waardoor variatie in het herkenningsprofiel van ACPA zou kunnen correleren met stadia van ziekte. Gebaseerd op deze overweging is in **hoofdstuk 6** beschreven of de fijn-specificiteit van ACPA relateert met het ontstaan van radiologische schade. Analyse van vijf verschillende fijn-specificiteiten liet ook na stratificatie van de onderliggende genetische variatie geen aanwijzing zien dat het herkenningsprofiel geassocieerd is met de mate van radiologische gewrichtsdestructie. Dit betekent, dat het onwaarschijnlijk is dat herkenning van de aanwezigheid van een bepaalde specificiteit binnen de groep van ACPA bijdraagt aan het ziekteproces.

DEEL III: BIJDRAGE VAN GENETISCHE VARIANTEN AAN RADIOLOGISCH GEWRICHTSDESTRUCTIE

Er zijn inmiddels meer dan 30 genetische polymorfismen geïdentificeerd die het risico verhogen om RA te ontwikkelen. Het blijkt tot nu toe echter uiterst moeilijk het onderliggende mechanisme voor elk factor te bepalen. Een recent ontdekte risicofactor ligt in een regio tussen twee genen op chromosoom 6q23, waarbij associatie met het gen dat codeert voor TNF-AIP3 (A20) het meest waarschijnlijk lijkt. A20 is een eiwit dat zorgt voor de negatieve regulatie van NFκB, een transcriptiefactor die o.a. de expressie van TNF-α bevordert. In het kader van RA is A20 interessant, omdat bij muizen de afwezigheid van A20 tot ernstige artritis leidt, terwijl de overexpressie van A20 artritis kan remmen. Opvallend was dat het risico bevorderende genetische polymorfisme alleen gevonden werd in een cohort van patiënten met lang bestaande ziekte, maar niet in cohorten met kort bestaande RA. Dit gaf aanleiding tot de aanname dat deze variant mogelijk invloed heeft op ernst van die ziekte. In **hoofdstuk 7** is beschreven of in totaal 5 genetische polymorfismen in de 6q23 regio de kans verhogen op het ontstaan van gewrichtsschade. Interessant genoeg werd gevonden dat twee polymorfismen inderdaad significant geassocieerd zijn met een ernstig beloop van RA. In combinatie met de data op eiwitniveau dragen deze bevindingen bij aan de hypothese dat de 6q23 regio direct invloed heeft op het ziekteproces dat leidt tot schade bij RA.

